ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1974 — N° 34

Recherche sur la néphrite de Masugi chez le porc miniature

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement en 1974

DEVANT

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

PAR

ROUSSEAU Pierre, Marie, Marcel, Yves

Né le 26 Janvier 1948 à SAVIGNÉ (Vienne)

Jury :

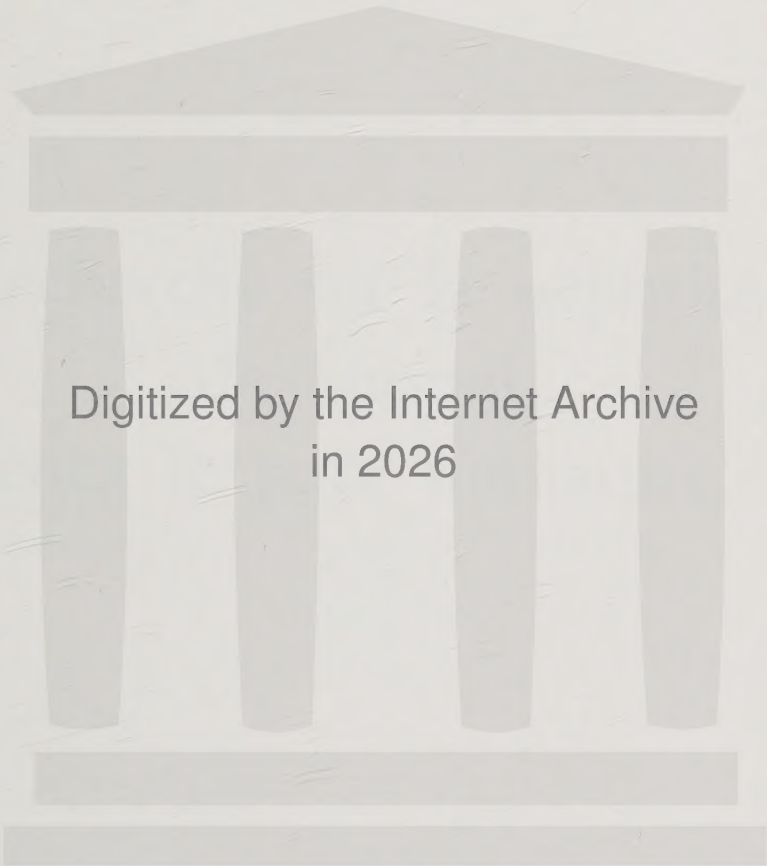
Président M. DUCOS, Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs M. VAN HAVERBEKE, Prof. à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

M. ESPINASSE, Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

TOULOUSE
IMPRIMERIE DU VIGUIER
6, rue Ninau, 6

1974


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549602_0014

Recherche sur la néphrite de Masugi chez le porc miniature

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

ANNÉE 1974 No 34

Recherche sur la néphrite de Masugi chez le porc miniature

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement en 1974

DEVANT

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

PAR

ROUSSEAU Pierre, Marie, Marcel, Yves

Né le 26 Janvier 1948 à SAVIGNÉ (Vienne)

Jury :

Président M. DUCOS, Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs M. VAN HAVERBEKE, Prof. à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

M. ESPINASSE, Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse

TOULOUSE
IMPRIMERIE DU VIGUIER
6, rue Ninau, 6

1974

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

DIRECTEUR. . . . . MM. LAUTIÉ
DIRECTEURS HONORAIRES. . . . . PONS, DARRASPEN FLORIO
PROFESSEUR HONORAIRE. . . . . LOMBARD

PERSONNEL ENSEIGNANT

Chaire de Pharmacie et Toxicologie.
Professeur titulaire. . . . . M. **Godfrain**
Maître-Assistant. agrégé ..... Mme **Burgat-Sacaze**
Pharmacie et Toxicologie

Chaire de Physique et Chimie Biologiques et Médicales.
Professeur titulaire. . . . . M. **Rico**
Maître-Assistant ..... M. **Braun**
Physique biologique et médicale
Chimie biologique et médicale

Chaire d'Anatomie des Animaux domestiques.
Professeur titulaire. . . . . M. **Pavaux**
Anatomie descriptive - Extérieur
Anatomie appliquée - Tératologie

Chaire de Physiologie et Thérapeutique.
Professeur titulaire. . . . . MM. **Ruckebusch**
Maître de Conférences, non Chef de Service..... **Fargeas**
Maître-Assistant ..... M. **Toutain**
Physiologie - Thérapeutique et Pharmacodynamie

Chaire d'Histologie - Anatomie Pathologique.
Professeur titulaire. . . . . MM. **Van Haverbeke**
Professeur sans Chaire..... **Cabanié**
Maître-Assistant. . . . . **Magnol**
Histologie - Embryologie - Anatomie Pathologique

Chaire d'Hygiène et Industrie des Aliments d'origine animale.
Professeur titulaire. . . . . M. **Labie**
Maître-Assistant. . . . . **Eeckhoutte**
Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie des Denrées alimentaires d'origine animale

Chaire de Parasitologie et Maladies Parisitaires.
Professeur titulaire. . . . . M. **Brizard**
Maître-Assistant Agrégé. . . ... **Dorchies**
Zoologie appliquée - Parasitoiogie externe
Parasitologie interne - Clinique

Chaire de Sémélologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores.
Professeur titulaire. . . . . M. **Florio**
Professeur sans Chaire..... **Lescure**
Maître-Assistant. . . . . **Guelfi**
Séméiologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie - Clinique

Chaire de Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour.
Professeur titulaire. . . . . M. **Tournut**
Professeur sans Chaire..... **Espinasse**
Maître-Assistant. . . . . **Bézille**
Séméiologie et Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour - Clinique
Clinique ambulatoire

Chaire de Pathologie Chirurgicale.
Professeur titulaire. . . . . M. **Cazieux**
Maître-Assistant ..... M. **Dickelé**
« M. Genevois
Propédeutique et Séméiologie Chirurgicale
Technique Chirurgicale - Pathologie Chirurgicale

Chaire de Pathologie de la Reproduction.
Professeur titulaire. . . . . M. **Berthelon**
Professeur sans Chaire..... **Royal**
Maître-Assistant. . . . . **Tainturier**
Séméiologie et Propédeutique
Pathologie de la Reproduction - Obtétrique - Clinique

Chaire de Maladies Contagieuses - Zoonoses Législation Sanitaire.
Professeur titulaire. . . . . M. **Saurat**
Maître-Assistant Agrégé. . . ... **Chantal**
Maladies Contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire
Maître-Assistant.. .... M. Gonière

Chaire de Pathologie générale - Microbiologie Immunologie.
Professeur titulaire. . . . . M. **Lautié**
Maître-Assistant. . . . . **Meignier**
Microbiologie - Immunologie - Pathologie générale

Chaire de Zootechnie et Economie Rurale.
Professeur titulaire. . . . . M. **Queinnec**
Maître-Assistant. . . . . **Darre**
Ethnologie - Génétique appliquée - Hygiène générale
Zootechnie - Elevage
Economie générale et des Productions animales

Chaire d'Alimentation.
Professeur titulaire. . . . . M. **Faliu**
Maître de Conférences, non on chef de service, **Griess**
Maître-Assistant ..... M. **Paragon**
Botanique appliquée et Bromatologie
Agronomie - Alimentation

COURS COMPLEMENTAIRES — CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Antibiothérapie des Maladies Infectieuses..... MM. **Monnier**
Aspect médical des Zoonoses..... **Armengaud**
Energétique. . . . . **Labouche**
Initiation à l'Informatique Biomédicale..... **Fernet**
Agronomie. . . . . **Combret**
Métabolismes. . . . . **Raynaud**

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats
(Délibération de la Faculté en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924)

A MES PARENTS

A MA FEMME

A MA SŒUR

A MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur J. Ducos
Professeur titulaire d'Immunologie
à l'Université Paul-Sabatier
Directeur de l'unité de recherches U 100 *de l'I.N.S.E.R.M.*
Directeur du Centre Régional
de Transfusion Sanguine de Toulouse

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE :

Monsieur le Professeur **G. Van Haverbeke**
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qui a eu la bienveillance d'accepter de participer à notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

Monsieur le Professeur **J. Espinasse**
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qui nous a inspiré le sujet de cette thèse et nous a toujours éclairé de ses conseils bienveillants.

Qu'il veuille bien trouver, dans ce travail, l'expression de notre respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur J.-M. Suc
Médecin des Hôpitaux
Service de Néphrologie, C.H.R. Purpan - Toulouse

A Monsieur le Professeur Agrégé J. Conte
Médecin des Hôpitaux
Centre d'hémodialyse périodique
C.H.R. Purpan - Toulouse

A Monsieur le Docteur J.-F. de Boissezon
Chargé de recherches à l'I.N.S.E.R.M.

A Madame le Docteur M. Mignon-Conte
Chargée de Recherches à l'I.N.S.E.R.M.

A Monsieur J. Rakotoarivony
Attaché de recherches à l'I.N.S.E.R.M.

A Mademoiselle C. Orfila
Attachée de Recherches à l'I.N.S.E.R.M.

A Madame J. Quercy
Technicienne à l'I.N.S.E.R.M.

A Monsieur C. Mora
Technicien à l'I.N.S.E.R.M.

A Mademoiselle C. Chapelet
Technicienne D.G.R.S.T.

C.H.R. PURPAN - TOULOUSE

Au personnel du service de Chirurgie Expérimentale du Bloc Alexis CARELL C.H.R. PURPAN — Toulouse

Qui nous ont permis de réaliser cette thèse.

Que ce travail soit l'occasion de leur témoigner notre respectueuse reconnaissance.

Ce travail a été effectué avec l'aide de la D.G.R.S.T. — Convention de recherches n° 71.7.2757 (B.P.P.A.A.C.) Professeur Agrégé J. CONTE) — et a été réalisé dans le cadre de l'activité de l'unité de recherches U 100 de l'I.N.S.E.R.M. (Directeur : Professeur J. DUCOS) et du Laboratoire Central d'Hématologie, Hémostase de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (Professeur J. ESPINASSE).

A TOUS NOS MAITRES DE L'ECOLE NATIONALE
VETERINAIRE DE TOULOUSE

PLAN

INTRODUCTION

PRMIERE PARTIE : GENERALITES
SUR LA NEPHRITE DE MASUGI

I. — Introduction : Les deux phases immunologiques de la Néphrite de Masugi.

II. — La Néphrite de Masugi chez différentes espèces animales.

III. — Lésions de la Néphrite de Masugi.

IV. — Immunologie de la phase hétérologue.

V. — Immunologie de la phase autologue.

VI. — Facteurs non immunologiques.

DEUXIEME PARTIE : RECHERCHES
SUR LA NEPHRITE DE MASUGI
CHEZ LE PORC MINIATURE

I. — Introduction.

II. — Conduite de la recherche.

III. — Résultats obtenus : Analyse et interprétation.

CONCLUSION

INTRODUCTION

La Néphrite de Masugi est une glomérulo-néphrite immunologique expérimentale obtenue par injection de sérum néphrotoxique (SNT) hétérologue à un animal d'expérience. Ce SNT est produit par un animal auquel on a injecté des extraits de rein appartenant à un représentant de l'espèce sur laquelle on veut induire cette glomérulo-néphrite.

C'est à LINDEMAN — 1900 — (17) que nous devons la première démonstration de la néphrotoxicité d'un sérum hétérologue anti-rein sur des animaux d'expérience. Celui-ci mit en évidence une albuminurie et une hyperazotémie sur des lapins ayant reçu des injections de sérum de cobaye anti-rein de lapin.

PEARCE — 1903-1904 — (27) étudia la néphrite induite sur des chiens par injection de sérum néphrotoxique de lapin. En outre, il nota que le cortex rénal du chien, seul, pouvait être utilisé comme antigène (Ag) immunisant.

WILSON et OLIVER — 1920 — (43) démontrèrent que le glomérule était le lieu de fixation des anticorps (Ac) du SNT.

MASUGI — 1929-1933-1934-1935 (20-**21-22-23**) fit une étude détaillée de la néphrite par SNT sur le rat et le lapin et nota les similitudes qui existent entre cette maladie et les glomérulo-néphrites humaines.

SMADEL et ses collaborateurs différencièrent les effets anaphylactiques du SNT et ses effets anti-rein. De plus, ils étudièrent la phase aiguë et la phase chronique de cette maladie et montrèrent que les différences

d'atteinte rénale dépendent, entre autres, du mode de vie et du sexe des rats utilisés. Ils démontrèrent également l'effet prophylactique d'une injection d'extrait rénal antérieurement à l'injection de SNT — SMADEL et SWIFT, 1941 (32) ; SWIFT et SMADEL, 1937 (34).

Les expériences de KAY, de 1940 à 1942 (15) furent cruciales. Il mit en évidence l'importance de la réponse de l'hôte à l'injection de SNT eu utilisant un sérum de canard anti-rein de lapin injecté au lapin. KAY postula, d'autre part, que le phénomène immunologique le plus important est la fabrication, par le receveur d'Ac anti-immunoglobulines (IgG) hétérologues qui viennent réagir avec les Ac néphrotoxiques fixés sur le rein.

Puis de nombreux autres chercheurs ont apporté leur contribution à cette étude. Nous pouvons citer, entre autres, PRESSMAN — 1957 — (28), qui utilisa des IgG néphrotoxiques marquées à l'iode radioactif, qui établit l'existence de l'interaction des Ac avec le tissu rénal et d'autres tissus, qui démontra la fixation rapide de ces Ac et mit en évidence leurs sites de fixation et leur persistance dans les tissus.

Tout ceci et de nombreuses contributions récentes, dont la plus importante est sûrement celle de VASSALI et MCCLUSKEY — 1971 — (39), qui ont montré l'importance majeure de la coagulation intraglomérulaire dans cette maladie, permettent une compréhension assez aisée de la pathogénie de la Néphrite de Masugi.

L'intérêt de l'étude de cette maladie réside dans les similitudes existant entre la Néphrite de Masugi et les glomérulo-néphrites humaines, comme l'a montré Masugi lui-même. Cette étude peut permettre une meilleure compréhension de la pathogénie des néphrites humaines et, par là même, peut entraîner le clinicien à envisager un traitement visant à anihiler les lésions produites par les différents facteurs pathogéniques entrant en jeu. De plus, sur un plan plus général, cette étude permet de mettre en évidence l'importance des réactions immuno-

logiques survenant dans les atteintes rénales aussi bien que dans l'atteinte d'autres organes et qui ont pour effet d'entretenir, voire d'aggraver, les lésions pré-existantes.

PREMIÈRE PARTIE

GENERALITES SUR LA NEPHRITE DE MASUGI

I. — *Introduction : Les deux phases immunologiques de la Néphrite de Masugi :*

La glomérulonéphrite immunologique provoquée par les SNT est due à l'action d'Ac hétérologues antiglomérulaires. Jusqu'à maintenant, les expérimentateurs ont surtout utilisé des SNT de lapin anti-rein de rat injectés à des rats. Ce fut, en particulier, le cas de MASUGI (22).

Les Ac néphrotoxiques, une fois passés dans la circulation sanguine du receveur, traversent rapidement l'endothelium des vaisseaux sanguins glomérulaires par les pores ménagés entre les cellules endothéliales à ce niveau pour aller se fixer sur les Ag correspondants de la membrane basale glomérulaire (MBG). Ceci correspond au début d'un phénomène qui va conduire, en deux phases, à l'apparition d'une glomérulonéphrite. La première phase est dite hétérologue et l'autre autologue.

1. — Phase hétérologue :

Cette première période correspond à la fixation des Ac néphrotoxiques hétérologues sur la surface interne de la MBG, c'est-à-dire en position *inter membrano* endothéliale. Sur le complexe Ac-Ag ainsi formé vient se fixer, alors, le complément sérique de l'hôte.

2. — Phase autologue :

Cette seconde période commence, en général, cinq à sept jours après la première. Elle est caractérisée par l'apparition d'Ac anti-IgG hétérologues synthétisés par

l'hôte, et ceux-ci viennent, à leur tour, se fixer sur les Ac néphrotoxiques qui jouent alors le rôle d'Ag pour ces Ac néoformés. Le phénomène de fixation du complément se produit encore à ce stade.

II. — *La Néphrite de Masugi chez différentes espèces animales :*

1. — Rats :

Comme il a été dit plus haut, le rat a été l'animal de laboratoire le plus utilisé pour l'étude de la Néphrite de Masugi. C'est pourquoi la description la plus complète de cette maladie a été faite dans cette espèce.

Les SNT utilisés étaient préparés sur des lapins ou des canards.

Tout d'abord, il convient de noter que le facteur le plus important pour induire une néphrite est la quantité d'Ac, contenus dans le sérum hétérologue, capables de se fixer dans les glomérules. Cette quantité conditionne aussi bien le moment d'apparition que l'intensité de la maladie. Si les Ac néphrotoxiques sont en nombre suffisant, la manifestation de la phase hétérologue est immédiate et caractérisée par une protéinurie et une cylindrurie apparaissant en quelques heures. Des doses plus faibles d'Ac néphrotoxiques induisent, ou bien une néphrite immédiate plus faible, ou bien aucune manifestation rénale. Dans ce cas-là, les premiers symptômes apparaissent lors du developpement de la phase autologue, soit cinq à sept jours après l'injection de SNT. L'existence de cette phase autologue est prouvée par l'identification des IgG de rat fixées dans les glomérules ou par la détection, dans la circulation de cet animal, d'Ac anti-IgG hétérologues. En l'absence d'une phase autologue, après une phase hétérologue immédiate, on observe une rémission qui peut aller jusqu'à la guérison totale en une semaine.

Lors de l'évolution de la néphrite, les rats présentent une altération des fonctions rénales avec hyperazotémie, clearance de la créatinine diminuée, anomalies

urinaires persistantes (oligurie...), perte de poids, anémie, hypertension, hypoprotéinémie et hyperlipidémie — MASUGI — (21). Le SNT peut également produire des lésions extrarénales.

Les symptômes que nous venons de décrire subissent des variations qui sont conditionnées par les différentes souches de rats utilisés, le poids, le sexe et l'âge de ces animaux, ainsi que par la voie utilisée pour l'injection de SNT.

Des rats de 4 à 6 semaines pesant 50 à 100 grammes, après injection d'un SNT puissant, produisent une réponse qui se solde par un syndrome néphrotique avec œdème marqué et ascite accompagnés d'anomalies biochimiques typiques telles hyperlipémie, hypercholestérolémie et protéinurie marquée — HEYMANN et LUND — (12). Des rats de taille plus grande présentent ou aucun symptôme ou de petites ascites et des œdèmes périphériques — WEINREB, SOULES et WISSLER — (42). L'influence de la souche utilisée a été démontrée par SMADEL et SWIFT (32). Les rats de souche « Whelan » sont très sensibles aux deux néphrites : aiguë et chronique. Ceux des souches « Long Evans » et « Wistar » font une néphrite lente mais progressive après une rémission de plusieurs semaines. Ces variations peuvent certainement être reliées aux variations de la réponse immunitaire aux globulines hétérologues chez les diverses souches de rats. La souche « Fischer » a également été utilisée. C'est la souche la plus sensible, lors de la phase hétérologue, c'est elle qui manifeste la « néphrite hétérologue » la plus sévère et la plus mortelle.

Dans une variété donnée, les femelles adultes présentent une néphrite chronique plus intense que les mâles, et l'affirmation contraire est vraie lorsqu'on utilise des individus prépubères.

Quant à la voie d'administration du SNT, son importance a été démontrée non seulement chez le rat mais aussi chez les autres espèces animales testées. L'administration intra-veineuse permet à un maximum d'Ac

néphrotoxiques de se fixer dans le rein, ce qui entraîne une néphrite très sévère. La voie intrapéritonéale permet seulement à deux fois moins d'Ac de se fixer et l'injection intramusculaire est encore moins efficace.

2. — Lapins :

Comme chez le rat, la quantité d'Ac néphrotixiques se fixant sur la glomérule est un facteur de première importance chez le lapin. Dans cette espèce, la quantité d'Ac néphrotoxiques fixés sur le glomérule détermine non seulement le degré de sévérité des symptômes mais aussi la vitesse de leur apparition.

Contrastrant avec la néphrite du rat, la néphrite hétéro-immune du lapin présente une phase hétérologue qui est, en général, sévère seulement pendant quelques jours. Ensuite les symptômes de cette phase s'amendent, rendant ainsi l'attaque de la phase autologue facilement reconnaissable par la réapparition de symptômes rénaux sévères.

Deux types de phase autologue ont été décrits chez le lapin : Si un nombre appréciable de lapins présentent une néphrite chronique auto-entretenue, avec des lésions rénales progressives et parfois fatales, la majorité d'entre eux présentent une guérison clinique totale ou partielle après quelques semaines. Ceci permet de mettre en évidence l'importance des facteurs propres à l'individu dans l'entretien de la lésion rénale. Il est probable que, pour soutenir un dommage immunologique, une interaction continue doit exister dans le glomérule entre de grandes quantités d'IgG néphrotoxiques fixées et les Ac de l'hôte. On sait que les Ac néphrotoxiques disparaissent assez rapidement du glomérule du lapin — Seegal — (31), ce qui peut expliquer les rémissions observées.

3. — Autres espèces :

Le chien semble répondre à l'injection de SNT de la même façon que le lapin, et la souris de la même façon que le rat. On sait que le singe a fait également l'objet d'études en ce qui concerne la Néphrite de Masugi,

mais des études cliniques et immunologiques détaillées n'ont pas été rapportées.

Quant au mouton, d'après les quelques renseignements connus, il semble extrêmement sensible à l'attaque des Ac néphrotoxiques.

III. — *Lésions de la Néphrite de Masugi :*

Dans la néphrite par SNT, le glomérule, et plus particulièrement la MBG, représente le site de fixation des Ac néphrotoxiques et, en conséquence, le site d'apparition de la plupart des phénomènes pathologiques.

La principale lésion se situe sur le côté interne de cette membrane basale, où des dépôts irréguliers de matériel dense sont observés — Fujimoto, Okada, Kondo et Tada — (9). Sur le plan ultrastructural, des séries d'études sur le chien, le rat et le lapin ont révélé un type biphasique de la maladie qui est en accord avec les deux phases immunologiques de la maladie. La phase hétérologue est caractérisée par l'apparition d'un matériel peu abondant, en ruban, appliqué sur la face interne de la MBG dès 6 à 12 heures après l'injection de SNT. Quant à la phase autologue, elle se caractérise par l'apparition d'un nouveau matériel, abondant cette fois en position sous-endothéliale, et qui ne cesse de s'accroître pendant les 4 semaines qui suivent l'injection. De plus, on a mis en évidence, dès la deuxième heure après l'apport de SNT, une accumulation de polynucléaires collés aux cellules endothéliales ou directement en contact avec la MBG qui, à ce moment, ne présente aucune altération visible — Cochrane, Unanue et Dixon — (4).

Les tubes contournés et le tissu intersticiel présentent aussi des anomalies morphologiques et biochimiques, mais celles-ci sont considérées comme secondaires par rapport à la maladie glomérulaire.

Pour les lésions glomérulaires, comme nous l'avons vu plus haut pour les symptômes, il existe une influence de l'espèce hôte, de l'espèce productrice de SNT, de la

quantité d'Ac néphrotoxiques utilisés, de l'existence ou non d'une phase autologue et enfin de la durée de la maladie.

Un autre point est à mentionner : c'est le manque d'uniformité des lésions dans un même rein. Ainsi, sur une même coupe histologique, on peut observer des glomérules sclérosés, d'autres présentant une activité proliférative marquée et des croissants épithéliaux et, enfin, certains glomérules très peu lésés. Ce phénomène peut s'expliquer par les variations dans les quantités d'Ac néphrotoxiques originellement fixés dans les divers glomérules, voire même en différents points du même glomérule. Puisque les Ac néphrotoxiques se fixent en quelques minutes après l'injection de SNT, toute inégalité dans la circulation sanguine d'un bout à l'autre du lit des capillaires glomérulaires peut expliquer ces variations quantitatives d'Ac fixés.

Dans la néphrite par SNT, des anomalies pathologiques sont notées dans d'autres territoires que le rein. Toutefois, ces anomalies sont, en général, secondaires à l'insuffisance rénale et en corrélation avec la sévérité du processus. Par exemple, on peut noter une hypertrophie cardiaque en rapport avec l'hypertension. De plus, les Ac néphotoxiques peuvent attaquer les tissus extrarénaux, comme l'ont montré Hiramoto, Gurandowski, Bernecky et Pressman (13), en se fixant sur les membranes basales de ces tissus. Ce phénomène a été observé, par exemple, au niveau du poumon.

IV. — *Immunologie de la phase hétérologue :*

1. — Les Antigènes glomérulaires :

Les principaux Ag glomérulaires se trouvent dans la MBG. Krakover et Greenspon (16) ont en effet démontré que la MBG est quarante fois plus puissante que les cellules glomérulaires pour induire la formation d'Ac néphrotoxiques chez un animal producteur de sérum hétérologue.

On a démontré, d'autre part, que la concentration

en Ag néphritogéniques est maximum dans les glomérules par rapport aux autres parties du rein comme la médullaire qui en contient tout de même des quantités non négligeables.

On a découvert également des Ag assez semblables au niveau du poumon, du placenta, du cœur, du foie et des muscles, ce qui a permis à CRUICKSHANK et HILL (5) d'établir l'existence d'un groupe commun d'Ag entre le rein et d'autres organes.

Tout ceci s'explique par l'existence d'une dualité antigénique au niveau du glomérule qui vient de la formation embryologique de la MBG. En effet, celle-ci peut être divisée en deux parties, l'une dérivant des cellules épithéliales et l'autre des cellules endothéliales — VERNIER et BIRCH-ANDERSEN — (40).

En gros, on peut donc affirmer que les Ag néphritogéniques ne sont pas entièrement spécifiques car ils présentent un certain degré de réaction croisée entre les tissus rénaux et extrarénaux de nombreuses espèces de mammifères.

Quelques propriétés physiques et immunologiques des Ag néphritogéniques ont été établies en utilisant des MBG ou du sédiment rénal :

— Ces Ag ne sont pas immédiatement solubles dans l'eau, les solutions salines ni les solvants organiques.

— Ils résistent à 60 °C pendant trente minutes mais sont en partie inactivés à 100 °C.

— Ils sont solubilisés, soit par lavages répétés ou sonication du matériel insoluble, soit simplement par dépôt de celui-ci pendant quelques jours entre 0 et + 4 °C.

— Les enzymes protélytiques tels typsine et pepsine rendent partiellement soluble le matériel insoluble.

YAGI, KORNGOLD et PRESSMAN (44) reconnaissent deux groupes d'Ag rénaux d'après leur sensibilité à la digestion par la trypsine.

— Le premier groupe est solubilisé et peut neutraliser 75 % des Ac capables de se fixer « in vivo ».

— Le second groupe n'est pas solubilisé et on présume qu'il représente les Ag capables de réagir avec le reste des Ac.

Ces deux groupes d'Ag contiennent en fait sept composantes antigéniques qui précipitent les Ac néphrotoxiques en milieu gélifié. Certains de ces Ag sont aussi présents dans le poumon, le placenta, le cœur et les extraits de muscles. D'autres semblent spécifiques.

2. — Caractérisation physico-chimique des anticorps néphrotoxiques :

Le lapin et le canard ayant été les deux espèces les plus fréquemment utilisées pour la production des SNT, leurs Ac néphrotoxiques sont les mieux connus. On a ainsi déterminé que la plupart des IgG néphrotoxiques de lapin sont des IgG2. Quant au sérum que produit le canard, il semble contenir trois immunoglobulines distinctes. L'une est apparamment équivalente à l'IgG1M des mammifères et les deux autres sont des IgG2 — Unanue et Dixon — (35).

3. — Spécificité des anticorps néphrotoxiques « in vivo » :

La spécificité des Ac néphrotoxiques « in vivo » a été étudiée surtout grâce à des techniques d'immunofluorescence. Pour ce faire, on a utilisé un sérum anti IgG hétérologue fluorescent injecté après le SNT. On a ainsi réussi à démontrer que les Ac néphrotoxiques d'un sérum sont remarquablement hétérogènes dans leur degré de spécificité pour les Ag rénaux.

« In vivo », les Ac néphrotoxiques antirat de lapin se fixent de préférence sur le rein, mais aussi, en quantité inférieure, dans la surrénale, le foie, le poumon, la rate, les ovaires, le tractus digestif, le placenta et les muscles. Toutefois, la vitesse de disparition des Ac néphrotoxiques des sites extrarénaux est plus rapide

que du rein, ce qui explique une augmentation de la concentration relative des Ac dans le rein, avec le temps.

Blau, Day, Planinsek et Pressman (2) ont étudié la faculté que présentaient des rats normaux et des rats néphrectomisés bilatéralement de fixer les IgG néphrotoxiques de lapin marquées à l'iode radioactif dans les trente minutes qui suivent leur injection. Ils en ont déduit que la moitié, à peu près, des Ac sont dirigés contre les Ag rénaux de façon spécifique. Ces Ac restent dans la circulation des rats néphrectomisés, les autres Ac sont dirigés contre des Ag communs au rein et à d'autres organes et sont absents dans la circulation des rats néphrectomisés.

4. — Localisation des anticorps néphrotoxiques dans le rein « in vivo » :

L'immunofluorescence ainsi que l'auto-radiographie après injection d'IgG néphrotoxiques marquées à l'iode radioactif ont permis de bien déterminer le lieu de fixation des Ac du SNT dans le rein. Cependant, la localisation anatomique la plus précise des Ac néphrotoxiques a été révélée en microscopie électronique par l'utilisation d'Ac marqués à la ferritine. Andres, Morgan, Hsu, Rifkind et Seegal (1) ont appliqué cette technique à des coupes de rein de rat présentant une Néphrite de Masugi. Ils ont, ainsi, observé une grande quantité de particules de ferritine le long du côté interne de la MBG, qui est, comme on l'a vu plus haut, le meilleur site antigénique. De telles particules sont aussi visibles, mais, en quantité bien inférieure au niveau d'autres parties du glomérule telles son endothélium et son épithélium.

5. — Vitesse de fixation et d'échange des anticorps néphrotoxiques :

Sarre et Wirtz (30) ont montré que la majorité des Ac néphrotoxiques d'un sérum de canard se fixe sur le rein de lapin en moins de vingt-cinq minutes. En effet, ces auteurs avaient clampé le pédicule de l'un des reins d'un lapin pendant les vingt-cinq minutes qui suivaient

l'injection de SNT. Le rein non clampé présenta ultérieurement des lésions sévères de néphrite, le rein clampé resta quasiment intact. Toutefois, des études plus approfondies ont démontré l'existence d'Ac néphrotoxiques qui se fixent moins vite. Ces Ac sont en quantité bien faible mais tout de même détectable.

Ceci a permis à BLAU et ses collaborateurs (2) de déterminer deux types de localisation des Ac néphrotoxiques de lapin chez le rat : les uns se localisent très rapidement et disparaissent de la circulation après une demi-vie de quatre minutes, les secondes ont une demi-vie de cent minutes.

Ces auteurs ont été ainsi amenés à considérer l'existence de deux sites antigéniques de fixation : l'un très important en contact direct avec la circulation et l'autre bien plus petit et éloigné de la circulation.

Des expériences plus approfondies ont montré que les Ac néphrotoxiques peuvent se libérer pour se refixer ultérieurement. Ce phénomène existe apparamment continuellement et peut se poursuivre bien au-delà de quelques heures. Ces résultats suggèrent qu'un Ac antitissu, par le processus continuel d'association et de dissociation, peut continuer à se lier périodiquement à l'Ag correspondant et à fixer, à ce moment, le complément qui continue ainsi son action pendant des jours ou des semaines.

6. — Dosage des anticorps fixés sur le rein :

Pour ce dosage, de nombreuses méthodes ont été utilisées dont celle de PRESSMAN, YAGI et HIRAMOTO (29) qui consiste à marquer les Ac néphrotoxiques par l'iode radioactif et à doser la radioactivité du rein de l'animal qui a reçu le sérum marqué après son sacrifice.

Par ces méthodes, et cela paraît évident, on trouve une bonne corrélation entre la quantité d'Ac injectés, la quantité d'Ac fixés et la gravité de la néphrite qui en résulte.

Chez le rat, une protéinurie faible, immédiate, est

obtenue après fixation de 150 µg d'Ac minimum sur le rein, une protéinurie modérée avec 175 à 200 µg et une protéinurie maximum avec 200 µg et plus. L'image histopathologique du rein varie de la même manière : une fixation de 175 à 200 µg d'Ac coïncide avec une glomérulonéphrite proliférative modérée, alors qu'une fixation de plus de 200 µg se caractérise par une glomérulonéphrite membraneuse et proliférative sévère.

Des estimations basées sur les techniques isotopiques indiquent que, pour induire une protéïnurie aiguë chez le rat, il doit y avoir fixation d'une molécule d'Ac pour 20 $m\mu^2$ de surface de filtration capillaire.

Toutefois, la quantité d'Ac néphrotoxiques nécessaire pour provoquer une lésion rénale aiguë est fonction de l'espèce du receveur et de l'espèce du donneur de SNT. De plus, la lésion obtenue diffère suivant l'espèce qui fournit les Ac antirein. Par exemple, si 150 à 200 µg d'Ac de lapins fixés sur un rein de rat ont pour effet d'entraîner une protéinurie immédiate, légère mais persistante, la même quantité d'Ac de canard dans les mêmes conditions induit une protéïnurie immédiate, forte mais transitoire.

7. — Rôle du complément dans la lésion glomérulaire :

La fixation du complément sur l'immun-complexe Ac néphrotoxique-Ag glomérulaire est importante car elle semble être un élément essentiel de la Néphrite de Masugi.

A. — ETUDES « IN VITRO » :

D'après les nombreux travaux qui ont été réalisés sur les SNT de lapin, de mouton et de canard, on peut déduire que les Ac de canard, comme ceux de tous les oiseaux, fixés sur des Ag ne retiennent qu'une quantité infime du complément sérique de l'individu qui fournit les Ag. En effet, si l'on perfuse « in vitro » un rein avec du sérum frais de rat additionné de SNT de lapin, il existe une chute du complément sérique. Au contraire,

si au système de perfusion on ajoute du SNT de canard, une telle chute n'apparaît pas. Toutefois, il ne semble pas exister de rapport entre la faculté d'un Ac néphrotoxique à fixer le complément « in vitro » et ses effets néphrotoxiques « in vivo ».

B. — TITRE DU COMPLEMENT SERIQUE :

L'injection d'Ac néphrotoxiques de lapin à des rats induit une chute rapide du titre sérique en complément hémolytique qui résulte, semble-t-il, de la fixation du complément à l'immun complexe Ac néphrotoxique-Ag tissulaire.

Le niveau du complément reste bas, en général, pendant deux à cinq jours et ensuite revient à sa valeur initiale lentement. Un nombre significatif de rats subit une seconde chute du complément en général lors du début de la phase autologue. Toutefois, le degré de chute du taux du complément est sans relation avec la sévérité de la néphrite.

Avec du SNT de canard, on n'observe qu'une très légère chute du complément lors de la phase hétérologue ou bien aucune modification du tout. Cependant, la chute observée lors de la phase autologue de la néphrite induite par du SNT de lapin se rencontre encore ici avec du SNT de canard.

C. — LIEU DE FIXATION DU COMPLEMENT :

Le lieu de fixation du complément peut être déterminé par l'emploi d'un sérum anticomplémentaire fluorescent que l'on dépose sur une coupe de rein néphritique. On a pu, de la même manière, utiliser des sérums antidifférents composants complémentaires permettant de mettre en évidence ces différents composants du complément.

Ainsi, on a pu mettre en évidence un schéma de fixation du complément analogue à celui de la fixation des Ac néphrotoxiques.

D. — MODE D'ACTION DU COMPLEMENT :

Le rôle du complément comme médiateur de l'attaque du glomérule lors de la phase hétérologue a été étudié de deux manières : soit en utilisant des Ac néphrotoxiques traités qui n'ont qu'un faible pouvoir de fixer le complément ou aucun pouvoir — SMALL et BAXTER — (33), soit en décomplémentant l'hôte — HAMMER et DIXON — (11).

Les différents produits utilisés pour décomplémenter l'hôte permettent une chute sélective du taux de tel ou tel composant du complément. Les IgG humaines agrégées par la chaleur induisent une chute marquée de C1 et C4 et une chute modérée de C2 et C3, quinze minutes après l'injection — WARD et COCHRANE — (41). Les particules de zymosan, après leur injection, entraînent une chute, essentiellement, de C3.

Il apparaît qu'une grande partie du dommage dont le complément est le médiateur, dans la Néphrite de Masugi est sous la dépendance de son pouvoir chimiotactique envers les polynucléaires. Le nombre de polynucléaires infiltrant les glomérules ainsi que la sévérité de la protéinurie précoce sont sous la dépendance de la quantité de complément fixé — COCHRANE et al. — (4).

Des expériences « in vitro » ont démontré que la fixation de C5, C6 et probablement C7 produit l'apparition d'un ou plusieurs facteurs chimiotactiques pour les polynucléaires. — WARD et al. — (41). Selon toute vraisemblance, le facteur chimiotactique agit, non en accroissant le nombre de polynucléaires atteignant le glomérule, mais en retenant ceux qui passent. Cette étape, quoique transitoire, n'en semble pas moins nécessaire à l'atteinte glomérulaire. En effet, sur des animaux dont le sang a été appauvri en polynucléaires, une quantité modérée de SNT n'induit pas de protéïnurie immédiate malgré la fixation des Ac néphrotoxiques et du complément. Ces polynucléaires libèrent sans doute des enzymes hydrolytiques. On a affirmé, tout de même, que des médiateurs ne venant pas de ces cellules peuvent aussi jouer un rôle

dans la Néphrite de Masugi. Cette assertion semble confirmée par le fait que les Ac néphrotoxiques de canard induisent une néphrite sur des rats sans participation détectable ni du complément, ni des polynucléairesl.

V. — *Immunologie de la phase autologue :*

1. — Caractères généraux :

La phase autologue de la Néphrite de Masugi est sous la dépendance de la réponse immunitaire de l'hôte aux IgG néphrotoxiques hétérologues — Hammer et al. — (11). Pendant cette phase, lesIgG néphrotoxiques se comportent comme un Ag fixé sur la paroi des capillaires glomérulaires auxquels les Ac de l'hôte se combinent. Plusieurs jours après l'injection de SNT, des Ac circulants anti IgG hétérologues sont détectés dans la circulation. En général, coïncidant avec ce phénomène, les IgG autologues, présumées Ac anti IgG néphrotoxiques sont détectées dans les glomérules par des méthodels immunohistochimiques. — Fujimoto et al. — (9). Plusieurs observations démontrent que les IgG autologues sont des Ac anti IgG néphrotoxiques : elles sont localisées suivant un schéma de distribution identique à celui des IgG néphrotoxiques, leur apparition coïncide, en général, avec le développement d'une réponse immunitaire de l'hôte et elles n'apparaissent pas dans les glomérules en l'absence d'une réponse de l'hôte — Hammer et al. — (11).

2. — Importance de la phase autologue :

L'importance de la phase autologue est mise en évidence par des expériences où cette réponse immunitaire est supprimée. Dans le cas où la quantité d'Ac néphrotoxiques injectée est trop faible pour produire une maladie précoce, la prévention de la réponse immunitaire de l'hôte évite totalement l'apparition d'une néphrite et dans le cas où les symptômes de la phase hétérologue existent, la suppression de la phase autologue entraîne une guérison clinique totale ou partielle. Ainsi Hammer et al. (11) étudièrent la néphrite de Masugi sur

des rats tolérants envers les IgG de lapin. Ces rats présentèrent une guérison clinique totale ou partielle suivant la phase hétérologue. D'autre part, les expérimentateurs ne mirent pas en évidence des IgG autologues dans les glomérules de ces rats.

3. — Mécanismes de l'atteinte rénale :

On sait que le complément peut être encore un médiateur important lors de la phase autologue. Il agirait de la même façon que pendant la phase hétérologue. Le fait que le complément se fixe aux capillaires glomérulaires pendant cette deuxième phase est suggéré par la chute de son taux au moment de la réponse immunitaire de l'hôte. Cette fixation semble se poursuivre aussi longtemps qu'il existe des Ac circulants autologues anti IgG néphrotoxiques. Cependant, l'infiltration du glomérule par des polynucléaires, au cours de cette phase, n'est pas évidente.

VI. — *Facteurs non immunologiques :*

1. — Régime alimentaire :

Si l'on demande au rein un surcroît de travail, la néphrite semble plus sévère. Ainsi — Farr et Smadel (8), ont démontré l'importance du régime alimentaire sur des rats néphritiques. Ceux-ci, soumis à un régime hyperprotéique, présentent une protéinurie et une mortalité supérieures à celles des animaux soumis à une alimentation hypoprotéique. On observe les mêmes résultats avec un régime hypersalé.

2. — Coagulation sanguine :

Vassalli et McCluskey (39) ont analysé les observations permettant de croire que l'un des mécanismes pathogéniques par lesquels les réactions immunologiques entraînent des lésions glomérulaires est le dépôt de fibrine ou de dérivés du fibrinogène au sein du glomérule. En effet, on observe fréquemment des dépôts de matériel fibrinoïde ou des thrombus fibrineux dans les capillaires glomérulaires accompagnés, parfois de nécrose focale dans la Néphrite de Masugi.

A. — PRODUCTION DE LESIONS GLOMERULAIRES PAR L'INDUCTION D'UN ETAT DE COAGULATION INTRAVASCULAIRE :

Si l'on injecte, chez le lapin, de la thrombine ou de la thromboplastine qui induisent une coagulation intravasculaire, on observe en microscopie optique et en microscopie électronique des lésions qui peuvent être ainsi schématisées — VASSALLI, SIMON et ROUILLER — (36) :

— Présence de matériel fibrinoïde dans les capillaires glomérulaires. En général, ce dépôt se situe sur la face interne de la MBG, ce qui donne, si le dépôt est suffisant, un aspect caractéristique en « wire loop ». Ce matériel fibrinoïde est, sans doute, de la fibrine incomplètement polymérisée ou dégradée en partie.

— Tuméfaction et prolifération des cellules mésangiales et endothéliales (cellules « intracapillaires »).

— Accumulation de matériel hyalin (« basement membrane like ») qui conduit parfois à l'obstruction des capillaires glomérulaires et s'accompagne d'altérations des MBG (épaississement, dédoublement, dépôts).

— Formation de croissants fibro-épithéliaux de la capsule de Bowman.

L'importance, la durée et la répétition des épisodes de coagulation intravasculaire ont une importance considérable sur le type et l'intensité des lésions observées qui vont d'une simple tuméfaction des cellules endothéliales à une prolifération intra-capillaire très marquée et à l'occlusion totale des anses glomérulaires par des masses de fibrine, ce qui aboutit à une nécrose corticale et au développement d'une sclérose glomérulaire — VASSALLI, SIMON et ROUILLER — (37).

B. — PATHOGENIE DES LESIONS RESULTANT DU DEPOT DE FIBRINE DANS LES GLOMERULES :

Cette pathogénie peut se résumer en deux concepts simples : phagocytose et organisation.

— Phagocytose :

Il est bien établi que les particules colloïdales circulantes et qui, normalement, sont retirées de la circulation par le système réticulo-endothélial s'accumulent toujours, en partie, dans le glomérule. Une accumulation trop rapide de celles-ci provoque une réaction cellulaire proliférative dans les glomérules. Ce phénomène peut être considéré comme une réponse phagocytaire — McCluskey et Vassalli — (18).

Dans les expériences de coagulation intravasculaire, on constate que la fibrine se dépose au même endroit que les particules colloïdales, c'est-à-dire dans les régions intercapillaires. De plus, on observe une phagocytose de cette fibrine par les cellules intracapillaires en prolifférales qui la dégradent petit à petit — Vassalli et al. — (36).

— Organisation :

Quand une quantité importante de matériel fibrinoïde est déposée le long de la MBG ou dans les espaces intercapillaires, on note que la prolifération cellulaire s'accompagne de dépôt de matériel hyalin. Parfois même, le matériel fibrinoïde est colonisé par ce matériel hyalin et est, progressivement, transformé à son image. Ces dépôts peuvent contenir des fibres de collagène, ce qui permet de rapprocher ce phénomène de la formation d'un tissu cicatriciel.

Le même processus d'organisation de la fibrine qui, s'étant échappée des capillaires glomérulaires, stagne dans l'espace de Bowman, paraît responsable de la formation des croissants.

Donc, le dépôt de fibrine et de dérivés du fibrogène est capable d'engendrer des lésions glomérulaires très semblables à celles que l'on observe à différents stades de la Néphrite de Masugi.

C. — Rôle du processus de coagulatioon dans la pathogénie de la Néphrite de Masugi.

Le rôle du processus de coagulation a été beaucoup étudié dans la Néphrite de Masugi de lapin — Vassalli et McCluskey — (38).

La présence de thromboses glomérulaires ou de dépôts de fibrine dans les anses capillaires et la capsule de Bowman est très notable dans cette affection, qui aboutit souvent, en deux à trois semaines, à l'oblitération complète des glomérules avec synéchies et croissants. Même si le dépôt de fibrine dans le glomérule n'est pas observable histologiquement, en immunofluorescence, on observe la présence diffuse de fibrine dans les cellules intracapillaires en prolifération. Cette observation permet de penser que les cellules intracapillaires tuméfiées phagocytent la fibrine et les dérivés du fibrinogène formés à la suite d'un processus de coagulation évoluant à bas bruit.

De tout ceci, on peut déduire que, dans la Néphrite de Masugi, la formation de fibrine est constante, même si celle-ci n'est pas observable histologiquement, et que les thromboses capillaires et les dépôts de fibrine dans la capsule de Bowman deviennent manifestes seulement quand les mécanismes protecteurs (phagocytose et fibrinolyse) sont débordés ou inefficaces — Vassalli et al. — (38).

En conclusion, il est permis d'affirmer que, dans la Néphrite de Masugi, il existe une coagulation intravasculaire secondaire à l'atteinte immunologique du glomérule. Ce processus joue un rôle intermédiaire qui explique les lésions conduisant à l'anéantissement progressif des glomérules.

D. — Mécanismes inducteurs de la coagulation intravasculaire dans la Néphrite de Masugi :

L'étude, en microscopie électronique, des altérations précédant le dépôt de fibrine a montré, dans la Néphrite de Masugi, le tableau suivant : accumulation dans les

capillaires glomérulaires de polynucléaires et de plaquettes altérées, souvent mélangées à quelques filaments de fibrine. Dans le cas des réactions par complexe Ag-Ac utilisant un Ag détectable en microscopie électronique, comme la ferritine, il est fréquent de trouver des amas de complexes en association avec les polynucléaires et les plaquettes, parfois à l'intérieur de ces cellules. D'autre part, on peut observer dans certaines anses capillaires la disparition de l'endothélium recouvrant la MBG, mais l'accumulation de plaquettes et de polynucléaires dans la lumière capillaire se rencontre également en l'absence de toute lésion de la paroi. Il est donc probable que la coagulation intravasculaire est la conséquence directe de la réaction Ag-Ac : soit directement par une activation du facteur XII de la coagulation et des plaquettes — Espinasse, Van Haverbeke et Cabanié — (7), soit indirectement par l'activation du complément qui attire les polynucléaires qui, eux-mêmes, libèrent les substances coagulantes — Horn et Collins — (14).

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES SUR LA NEPHRITE DE MASUGI CHEZ LE PORC MINIATURE

I. — INTRODUCTION.

Depuis que l'on sait, grâce à VASSALLI et MCCLUSKEY (39), que les dépôts de fibrine dans le glomérule, lors de la Néphrite de Masugi, pourraient entraîner une prolifération des cellules endothéliales, mésangiales et épithéliales du glomérule, de nombreuses études se sont attachées à préciser le rôle exact des phénomènes de coagulation dans la pathologie immunologique du glomérule et leurs conséquences thérapeutiques.

Les phénomènes de coagulation intravasculaire et extravasculaire peuvent être étudiés sur les biopsies rénales par les techniques d'immuno-fluorescence et peuvent être « approchés » sur le sang périphérique et les urines en dosant les produits de dégradation de la fibrine.

A l'heure actuelle, le cheminement qui mène de la formation du complexe Ag-Ac à l'apparition de lésions rénales plus ou moins sévères est bien déterminé. L'effet préventif de l'Héparine est aussi bien connu. Toutefois, les effets et le mode d'action de l'Héparine utilisée curativement sont moins clairement élucidés.

Toutes ces considérations donnaient à nos études trois objectifs précis :

— Confirmer que la prolifération des cellules glomérulaires et la mutilation des glomérules au cours de

la Néphrite de Masugi sont secondaires aux dépôts de fibrine endocapillaires et extracapillaires.

— Etudier le rôle curatif de l'Héparine dans le traitement de la Néphrite de Masugi du porc miniature.

— Dissocier les effets de l'Héparine en comparant son action à l'action d'un anticoagulant antivitamine K (Phénindione) et à l'action d'une substance anticomplémentaire (un héparinoïde type Hémoclar). En effet, l'Héparine possède trois activités essentielles : anticoagulante, anti-inflammatoire et anticomplémentaire — Halpern, Lagrue, Fray, Morard et Milliez — (10).

Si la Néphrite de Masugi a été beaucoup étudiée chez le rat et le lapin et moins souvent chez le chien, la souris, le mouton et le singe, elle ne l'a pas encore été, à notre connaissance, chez le porc. Or, cette étude est apparue intéressante du fait des similitudes existant entre l'espèce porcine et l'espèce humaine, tant du point de vue physiologique que du point de vue anatomique. Il est aisé, d'autre part, de comprendre pourquoi le porc miniature a été choisi, de préférence au porc normal, pour cette expérimentation. En effet, sa taille, son poids et son prix d'achat font du porc de souche Pitmann-Moore un sujet d'expérience bien plus pratique et économique que son homologue de taille courante.

II. — Conduite de la recherche :

A l'origine, cette recherche devait comprendre deux grandes phases :

— Une phase préparatoire permettant de réaliser une Néphrite hétéro-immune de Masugi chez le porc miniature.

— Une phase expérimentale permettant d'étudier l'action de l'Héparine sur les phénomènes de coagulation intraglomérulaire.

1. — *Phase préparatoire :*

A. — Problèmes techniques :

Trois problèmes de base se sont posés à nous avant le début de l'expérimentation :

— prélèvements d'urine,

— prélèvements sanguins,

— prélèvements rénaux.

a) Prélèvements d'urine :

Ceux-ci ont représenté l'une des plus grosses difficultés techniques. En effet, l'idéal aurait consisté à prélever l'ensemble de l'urine éliminée par jour par les porcs. Or, les sondes souples à ballonnet gonflable que l'on a réussi à poser se sont bouchées ou ont entraîné une inflammation qui rendait les résultats des analyses ininterprétables.

La seule technique que nous avons pu utiliser a été le sondage vésical répété de chaque porc avant chaque analyse d'urine. Cette méthode, cependant, a encore présenté de nombreux inconvénients (cathétérisme difficile et même quelquefois impossible, irritation des voies urinaires, micro-hémorragies, etc.).

b) Prélèvements sanguins :

Il s'agissait d'un problème important puisqu'il nous fallait réaliser des prélèvements abondants et répétés.

L'accès au système circulatoire par la veine auriculaire externe a été une technique vite rejetée étant donné la localisation souvent difficile de cette veine sur le porc miniature. De plus, elle ne permet pas de prélèvements abondants.

La veine basilique sur la face interne du membre antérieur est d'accès plus facile, mais elle roule et nécessite une contention très efficace du membre.

La mise en place d'un cathéter en silastic dans la veine jugulaire externe, qui, après cheminement sous-cutané, sont en position rétro-auriculaire, ne nous a pas donné satisfaction, étant donné la nécessité d'un entretien quotidien.

Le shunt artérioveineux entre la carotide et la veine jugulaire extere superficielle thrombose très facilement, car le porc miniature prsente une hypercoagulabilité spontanée.

En fait, la seule technique valable, et qui permet des prélèvements très abondants et répétés, est la ponction de la veine cave supérieure près du confluent de la jugulaire et de la veine sous-clavière. Cette ponction est réalisée avec un trocard de 10 cm à biseau court. Le point de ponction est situé à 1 cm en dehors et à droite du cartilage sternal, c'est-à-dire dans l'angle formé par ce cartilage et la première côte ; l'aiguille est enfoncée à 45° d'avant en arrière sous la première côte en aspirant — Mount et Ingram — (25).

De cette manière, les prélèvements itératifs se font sans aucune difficulté.

c) Ponction biopsie rénale :

Il est possible de réaliser des biopsies rénales transcutanées à l'aiguille chez le porc miniature. La projection du rein sur les plans cutanés est très fixe ; nous l'avons étudiée au moyen d'urographie intraveineuse et l'avons matérialisée à l'aide d'une encre indélébile par tatouage. Le rein, solidement fixé au plan postérieur, n'est pas repoussé par l'aiguille de biopsie. Cependant, même s'il existe le même rapport entre la taille du rein et le poids corporel chez le porc miniature et chez l'homme (O, 43), la ponction est plus difficile car le rein du porc est très oblique par rapport au plan vertébral. Aussi, l'aiguille de ponction entre-t-elle, en général, par le bord externe du rein dont la section n'est pas très large : les chances de succès de la ponction ne dépassent pas un sur trois. Enfin, l'épaisseur du derme du porc fragilise les aiguilles malgré la préparation préalable du tunnel dermique avec un trocard.

Devant ces difficultés, nous avons essayé une autre technique consistant à placer le rein du porc miniature en position sous-cutanée, comme cela est pratiqué chez le chien. La longueur du pédicule artérioveineux et sa

mobilité permettent de mettre le rein en position sous-cutanée à travers une boutonnière de la paroi abdominale latérale. Le rein, ainsi placé sous la peau, est plus facilement accessible, mais l'intervention est longue et nécessite un chirurgien entraîné aux abords vasculaires. En définitive, nous avons préféré, à partir de la dixième biopsie rénale, réaliser des biopsies chirurgicales à l'aiguille par une courte lombotomie. Le rein est ainsi rendu accessible aux doigts de l'observateur, qui peut alors choisir le lieu de prélèvement, éviter le hile et ponctionner dans la plus grande épaisseur du rein.

A propos de cette ponction biopsie, il faut souligner plusieurs points très intéressants :

— L'anesthésie du porc miniature est facile. Nous avons utilisé le plus souvent du Métomidate (Hypnodil ND) à la dose de 10 mg/kg en intrapéritonéale après une préanesthésie à l'Azapérone (Stresnil ND) è la dose de 2 mg/kg par voie intramusculaire.

— Le champ opératoire est pratiquement toujours exsangue et l'abord du rein est facile.

— La récupération post-opératoire est quasi immédiate.

— La résistance à l'infection semble exceptionnelle.

— La tolérance est très grande puisque nous avons pu réaliser, sans inconvénient, jusqu'à sept biopsies rénales, au rythme d'une par semaine, sur le même porc miniature.

B. — Etudes anatomiques et biologiques :

— Le rein du porc miniature a une ultrastructure très grossièrement superposable à celle du rein de l'homme — Mignon-Conté M. et Conté — (24).

— Etudes des protéines : Les protides totaux sont compris entre 65 et 75 g °/$_{oo}$ et l'électrophorèse sur papier montre une image analogue à celle du sérum humain avec une fraction β rapide supplémentaire.

L'immunolo-électrophorèse est réalisable au moyen des immuns sérums commerciaux — De Boissezon et Rakotoarivony — (6).

— Etude de l'hémostase : L'étude de la coagulation montre que le complexe prothrombinique et le fibrogène ont des valeurs analogues à celles de l'homme. Les autres tests de coagulation montrent une importante hypercoagubilité globale par rapport à l'homme, mais toutefois inférieure à celle présentée par le porc normal — Boneu, Bierme et De Boissezon — (3) *.

— Etude de la membrane basale du glomérule du porc miniature : Cette étude a été réalisée par Muh (26). La composition en acides aminés donne des résultats comparables à ceux déjà obtenus dans les autres espèces animales (chiens, bœufs, rats, lapins) (tableau I).

(*) Nous remercions M. le Professeur BIERME et M. le Docteur BONEU d'avoir bien voulu nous communiquer les résultats des bilans d'Hémostase qu'ils ont réalisés sur le porc miniature.

Tableau I

COMPOSITION DE LA MEMBRANE BASALE GLOMERULAIRE DU PORC MINIATURE

Acide aspartique	65,5
Thréonine	36,4
Sérine	51,2
Acide glutamique	117,1
Proline	52,4
Glycocolle	207,2
Alanine	58,9
1/2 Cystine	25,4
Valine	43,9
Méthionine	20,0
Isoleucine	28,9
Leucine	76,5
Tyrosine	20,5
Phénylanine	31,5
3 Hydroxyproline	18,5
4 Hydroxyproline	55,0
Hydroxylysine	19,1
Lysine	26,4
Histidine	22,2
Arginine	22,5

Les résultats sont exprimés en résidus d'acides aminés pour 1 000 résidus.

C. — Préparation des immuns sérums :

La préparation des immuns sérums (sérum néphrotoxique, immuns sérums anticomplément et antifibrine-fibrinogène de porc miniature) a duré huit mois. Elle a été réalisée grâce au travail De Boissezon et Rakotoarivony (6), aidés de Chapelet C. En voici le compte rendu :

a) Préparation du sérum néphrotoxique :

— Préparation de l'extrait de corticale de rein de porc miniature :

Le rein de porc miniature prélevé est immédiatement perfusé par l'artère rénale avec du sérum physiologique à + 4 °C jusqu'à ce que le liquide de perfusion qui sort de la veine rénale soit clair. La corticale est alors isolée, débitée en fragments de 5 mm, additionnée de son volume de sérum physiologique et broyée à l'aide d'un homogénéiseur Ultra Tarrax. Après conservation à + 4 °C pendant douze heures, le broyat est centrifugé à 1 700 G pendant dix minutes. Le surnageant est prélevé, soumis ou non à une sonication pendant dix minutes. Puis ce surnageant est réparti dans des tubes à essai et conservé au congélateur à — 25 °C jusqu'à utilisation.

— Préparation de l'immun sérum de lapin anti-rein de porc miniature :

Cet extrait de corticale additionné, à partie égale, d'adjuvant complet de Freund, est injecté à 8 lapins par voie intrapéritonéale, 2 fois par semaine pendant 5 semaines, à la dose de 150 mg de protides par injection et par lapin. Les prélèvements sont commencés une semaine après la dernière injection et les Ac sont titrés en immuno-diffusion. On n'a observé aucune différence, ni en immuno-diffusion, ni en immuno-électrophorèse entre les immuns sérums correspondant aux extraits soumis ou non à une sonication.

Les prélèvements sont ensuite répétés une fois par semaine. Lorsque le titre des Ac baisse, deux injections

de rappel sont pratiquées en remplaçant l'adjuvant de Freund par l'alun d'ammonium. Seuls les sérums à titre élevé sont mélangés pour constituer un pool d'immuns sérums. Ce pool a été testé en immuno diffusion face à un extrait de rein titrant 204,75 °/$_{oo}$ de protides : le test met en évidence trois traits de précipitation nettement visibles à des dilutions successives de 1/4, 1/8^{e} et 1/16^{e}. Ces traits de préciptation correspondent à des protéines de mobilités électrophorétiques albumine, $\alpha 2$ et β-γ globulines.

— Préparation de l'immun sérum de canard anti-rein de porc miniature :

L'extrait de corticale de rein additionné d'adjuvant complet de Freund est injecté à 21 canards par voie intra-péritonéale, à raison de 3 injections par semaine pendant 3 jours consécutifs, durant 7 semaines. Chaque injection contient 75 mg de protides.

Dans une première série de 9 canards, 4 sont décédés en cours d'immunisation ; les 5 autres ont été testés une semaine après la dernière injection. Un canard a été saigné à blanc et des injections de rappel ont été pratiquées sur les autres, sans amélioration notable du taux des Ac. Dans une deuxième série de 12 canards immunisés de manière identique, tous ont été saignés à blanc une semaine après la dernière injection. Tous les sérums ont été mélangés pour constituer un pool d'immuns sérums.

— Extraction et conjugaison des IgG de lapin anti-rein de porc miniature :

Les protéines de l'immun sérum sont précipitées par le sulfate de sodium à 16 %. Le culot est lavé par du sulfate de sodium à 15 % puis le sulfate est éliminé par dialyse ou par filtration sur Sephadex G 25. Les IgG sont alors extraites en mettant à profit leur solubilité dans l'acide caprylique à pH : 4,8 (4 gouttes d'acide caprylique pur par ml de solution protéique tamponnée à pH 4,8 par un tampon acétate 0,06 M). L'acide caprylique est éliminé par dialyse et les IgG sont lyophylisées.

La conjugaison est effectuée avec de l'isothiocyanate de fluorescéine absorbée sur de la célite (laboratoire SERVA) : les IgG liophylysées sont remises en solution et tamponnées à pH 8,9 par un tampon carbonate-bicarbonate 0,05 M, et additionnées d'isothiocyanate de fluorescéine. Le mélange est agité pendant trente minutes, puis centrifugé. La filtration sur Sephadex G 25 en tampon phosphate à pH 6,5 permet d'éliminer le colorant non fixé sur les IgG.

Ces IgG de lapin anti-rein de porc miniature représentent les Ac anti-membranes basales de porc miniature.

b) Préparation de l'immun sérum de lapin anti-complément de porc miniature :

— Préparation du complexe albumine bovine-anti albumine bovine :

Un immun sérum de lapin anti-albumine bovine décomplémenté est mis en présence d'albumine bovine dans des proportions correspondant à la zone d'équivalence préalablement déterminée par néphélémetrie (dosage photométrique du précipité). Après incubation à 37 °C pendant une heure, le mélange est laissé à + 4 °C pendant 4 jours, puis centrifugé à + 4 °C. Le culot est ensuite lavé 8 fois avec du sérum physiologique froid.

— Fixation du complément du porc miniature :

Le culot est mis en présence de sérum frais de porc miniature, incubé à 37 °C pendant une heure, laissé à + 4 °C pendant 12 heures puis centrifugé. Le deuxième culot ainsi obtenu est lavé 8 fois avec du sérum physiologique froid, congelé rapidement et conservé à — 25 °C. C'est essentiellement le facteur C3 du complément qui se fixe sur ce complexe.

— Immunisation du lapin :

Le culot remis en suspension est injecté, additionné d'adjuvant de Freund complet à 2 lapins par voie intrapéritonéale à raison de 2 injections par semaine pendant 5 semaines. 8 injections de rappel avec de l'alun d'am-

monium ont été nécessaires pour obtenir une réaction décelable en immunodiffusion. Les prélèvements ont été ensuite effectués une fois par semiane ; seuls les sérums à titre élevé d'Ac sont mélangés pour constituer un pool d'immuns sérums. Ce pool, testé contre du sérum frais de porc miniature révèle des traits de précipitation visibles jusqu'au 1/32e.

Après absorption par du sérum de porc décomplémenté (zymosan) les IgG de cet immun sérum de lapin anti-complément de porc miniature sont extraites et conjuguées à l'isothiocyanate de fluorescéine. Il s'agit essentiellement d'Ac anti C3.

c) Préparation de l'immun sérum de lapin anti-fibrinogène, anti-fibrine de porc :

Cet immun sérum a été préparé à l'aide de fibrinogène de porc (laboratoire Pentex). Le fibrinogène, à la dose de 0,5 mg par injection, additionné d'adjuvant complet de Freund est injecté à 4 lapins par voie sous cutanée 2 fois par semaine pendant 3 semaines. Le prélèvement initial est fait une semaine après la dernière injection et l'immun sérum est testé en immunodiffusion. Les prélèvements sont ensuite effectués une fois par semaine. Seuls les sérums à titre élevé sont mélangés pour constituer un pool d'immuns sérums qui donne, en immunodiffusion, un trait de précipitation visible jusqu'au 1/8e face à une solution de fibrinogène contenant 3 g°/$_{oo}$ de fibrinogène. L'immuno électrophorèse révèle, outre le fibrinogène, des IgG et de l'albumine. Après absorption par du sérum de porc miniature, cet immun sérum mis en présence de plasma de porc miniature, ne révèle plus que le fibrinogène. Les IgG de cet immun sérum sont extraites par préciptation au sulfate de sodium et purification par l'acide capryline pour être conjuguées à l'isothyocyanate de fluorescéine.

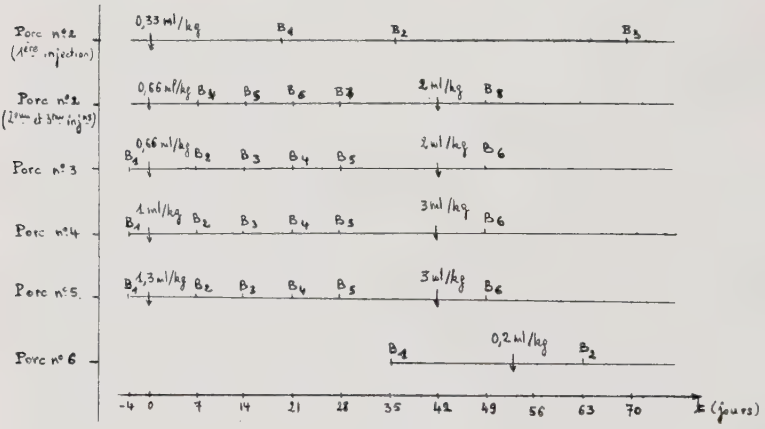
D. — Protocole expérimental :

Nous avons utilisé des porcs miniatures de la souche Pitman-Moore. L'injection de SNT a toujours été

réalisée après une biopsie rénale de contrôle. Cette injection a été faite par voie intraveineuse chez 5 porcs miniatures (N° 2 - 3 - 4 - 5 - 6) à des doses variables pour la première injection (0,2 à 1,3 ml/kg). Quatre porcs miniatures ont reçu une deuxième dose plus importante de SNT 42 jours après l'échec de la première injection (2 à 3 ml/kg) (tableau 2). Le porc numéro 2 avait reçu très antérieurement à ces deux injections une première dose de SNT de 0,33 ml/kg.

L'évolution de la néphropathie a été surveillée biologiquement et histologiquement :

Tableau 2.



B = Ponction biopsie rénale.
↓ = Injection de SNT.

- Tableau chronologique des injections de SNT et des ponctions biopsies rénales -

— La protéinurie et le sédiment urinaire ont été surveillés une fois par semaine.

— La créatininémie a été dosée tous les 3 jours.

— Le complément sérique a été dosé tous les 2 jours.

— Tous les porcs miniatures ont eu une biopsie rénale par semaine jusqu'au 30e jour après chaque injec-

tion. Ces biopsies ont été examinées en microscopie optique, en immunofluorescence et en microscopie électronique.

2. — Phase expérimentale :

Le protocole utilisé, malheureusement, n'a pas permis d'obtenir un modèle expérimental de Néphrite de Masugi suffisamment sévère pour servir de base à l'étude des effets de l'Héparine. Nous essaierons de voir, plus loin, quelles modifications on pourrait apporter au protocole pour le rendre plus efficace.

III. — *Résultats obtenus : Analyse et interprétation :*

Les résultats obtenus sur les cinq porcs miniatures doivent être étudiés sur le plan biologique et sur le plan histologique.

1. — Résultats biologiques :

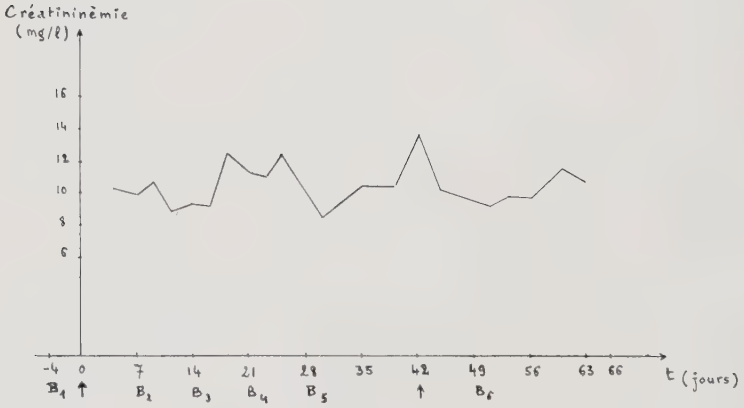
— La protéinurie a varié entre 0,10 et 0,88 g/l avec un maximum au 23e jour. Il s'agit d'une protéinurie sélective avec une très nette prédominance des albumines. Nous savons que l'albuminurie signe en général l'existence d'une néphrite glomérulaire.

— Le sédiment urinaire a révélé une hématurie microscopique de l'ordre de 200 hématies par mm^3. Cependant, ce résultat n'est pas interprétable en raison du sondage, souvent difficile, nécessaire à l'obtention d'urines.

— La créatininémie n'a jamais montré de variations significatives : son taux est resté compris entre 8 et 15 mg °/oo contre 9 et 13 mg °/oo pour les porcs témoins. Ceci prouve qu'il n'a jamais existé de modifications notables de la filtration glomérulaire (tableau 3).

— Les variations individuelles du complément sérique ont été difficilement interprétables. La courbe tracée à partir de la moyenne des valeurs observées chez 4 porcs montre une baisse assez régulière du taux du complément sérique en fonction du temps. Cette dimi-

.Tableau 3.

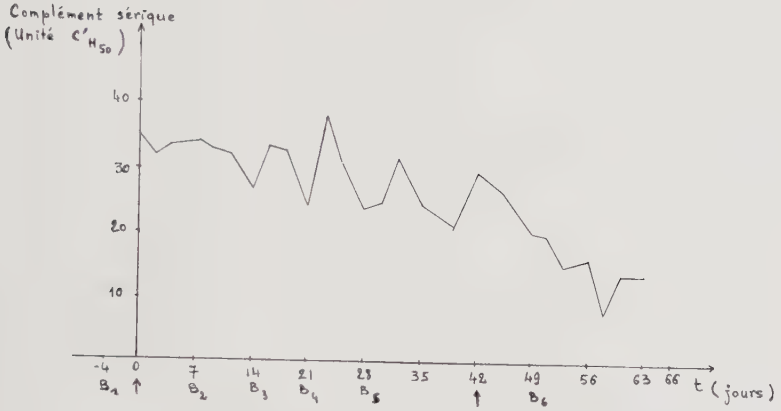


B = Ponction biopsie rénale
↑ = Injection de SNT.

- Etude de la Créatininémie -
(Courbe moyenne pour 4 porcs)

nution du taux du complément sérique est plus nette après la deuxième injection de sérum anti-rein (tableau 4).

.Tableau 4.



. Dosage du complément sérique .
(Courbe moyenne pour 4 porcs)

— Les Ac anti-lapin ont été régulièrement recherchés chez le porc n° 3, par immuno-diffusion technique d'Ouchterlony). Le sérum de porc, à des concentrations décroissantes, a été mis en présence de sérum de lapin non immunisé. Cette recherche s'est avérée négative avant l'injection de SNT et le 7e jour qui a suivi l'injection. Par contre, la recherche s'est avérée positive le 21e jour : en effet on a observé plusieurs traits de précipitation dont le dernier correspond à une dilution du sérum de porc au 1/16e. Le porc miniature produit donc des Ac anti-protéines sériques de lapin après l'injection de SNT. Mais l'identification des Ac correspondant à ces traits (par immuno-électrophorèse) n'a pas été réalisée.

En conclusion, du point de vue biologique, la néphropathie hétéro-immune réalisée est très modérée puis-

qu'elle n'entraîne pas de diminution de la filtration glomérulaire.

2. — Résultats histologiques :

— En microscopie optique, les lésions observées sont toujours restées modérées. Elles sont caractérisées par la présence d'un exsudat amorphe, « fibrineux » faiblement abondant dans l'espace urinaire des glomérules associé à une turgescence du mésangium et des capillaires, secondaire à un œdème endothélial et à une hyperplasie très modérée des axes mésangiaux. Ces lésions ont, le plus souvent, un caractère segmentaire.

— En microscopie électronique, les cellules épithéliales sont turgescentes et présentent de très nombreuses micro-villosités. Cette lésion élémentaire s'accentue avec la répétition des injections. Les lumières capillaires sont très réduites par l'œdème endothélial et 'œdème mésangial. Les axes mésangiaux sont densifiés. Dans quelques glomérules, les anses capillaires renferment quelques agrégats plaquettaires et quelques polynucléaires.

— En immunofluorescence, il existe dans tous les glomérules une fixation linéaire et régulière du sérum anti IgG 7S de lapin sur les membranes basales des glomérules plus ou moins rapidement. Ce résultat est la preuve que les Ac antimembrane basale du SNT se sont bien fixés le long des membranes basales des glomérules du porc miniature. L'importance de cette fixation est maximale sur la biopsie faite 7 jours après l'injection du SNT. Elle décroît ensuite régulièrement.

Par ailleurs, il existe une fixation linéaire et continue sur les membranes basales du sérum anti-complément (double couche). Toutefois, le sérum anti-immuno globuline de porc miniature a une fixation soit linéaire soit granulaire sur les membranes basales.

L'immun sérum antifibrine se fixe de manière irrégulière, soit dans le territoire intercapillaire, soit dans l'espace urinaire des glomérules (tableaux : 5 - 6 - 7).

TABLEAU V

N° de la B / N° du Porc	B_1	B_2	B_3	B_4	B_5	B_6	B_7	B_8
2	±	±	±	+	±	± ā +	±	++ ā +++

N° de la B / N° du Porc	B_1	B_2	B_3	B_4	B_5	B_6
3	—	+ ā ++	0	0	+	+
4	0	+ ā ++	+ ā ++	± ā +	±	++
5	—	+	+	+ ā ++	±	+ ā ++

B = Ponction biopsie rénale.

O = Absence de glomérules sur la coupe histologique.

La chronologie des ponctions biopsies rénales est schématisée sur le tableau 2, p.

Fixation du sérum anti IgG 7S de lapin

TABLEAU 6

N° de la B / N° du Porc	B_1	B_2	B_3	B_4	B_5	B_6	B_7	B_8
2	+ à ++	+ à ++	++	0	+	+	0	+ à ++

N° de la B / N° du Porc	B_1	B_2	B_3	B_4	B_5	B_6
3	0	0	0	0	+ ā ++	+ à ++
4	0	++	++	++	++	++ à +++
5	+	++ à +++ segmentaire	++	± à ++	++	+

B = Ponction biopsie rénale.

O = Absence de glomérules sur la coupe histologique.

La chronologie des ponctions biopsies rénales est schématisée sur le tableau 2, p.

Fixation du sérum anti IgG de porc

TABLEAU 7

N° de la B / N° du Porc	B_1	B_2	B_3	B_4	B_5	B_6	B_7	B_8
2	± ā + "virgules" segmentaires	± ā + "virgules" segmentaires	—	+ ā ++ "virgules" segmentaires	—	—	+ "virgules" segmentaires	+ "virgules" segmentaires

N° de la B / N° du Porc	B_1	B_2	B_3	B_4	B_5	B_6
3	+ "virgules" mésangiales généralisées	0	0	± ā + petits "patches" segmentaires	+ ā ++ "virgules" segmentaires péricapillaires	± "virgules" segmentaires
4	0	+ "filaments" péricapillaires segmentaires	+ "Filaments" péricapillaires	± ā + "virgules" segmentaires	—	+ ā ++ "Filaments" segmentaires
5	+ "granules" mésangiaux	± "grains" segmentaires	0	+ ā ++ "virgules" segmentaires mésangiales	+ "virgules" péricapillaires	− ā ± "patches" segmentaires et focaux

B = Ponction biopsie rénale.

O = Absence de glomérules sur la coupe histologique.

La chronologie des ponctions biopsies rénales est schématisée sur le tableau 2, p.

Fixation du sérum anti-fibrine fibrinogène de porc

3. — Interprétation des résultats :

Si le protocole expérimental utilisé n'a pas permis d'obtenir une néphropathie hétéro-immune de Masugi suffisamment sévère pour servir de base à l'étude des effets de l'Héparine sur cette glomérulonéphrite, il n'en reste pas moins vrai que ce protocole a permis d'obtenir une glomérulonéphrite modérée et segmentaire bien documentée sur le plan histologique.

La fixation linéaire du sérum anti IgG 7S de lapin sur les membranes basales ainsi que la fixation linéaire du complément caractérisent la phase hétérologue de la glomérulonéphrite hétéro-immune de Masugi.

L'apparition d'Ac antiprotéines sériques de lapin chez le porc miniature et la fixation linéaire ou granulaire sur les membranes basales du sérum anti-immuno gobulines de porc caractérisent la phase autologue de la Néphrite de Masugi. Mahieu (19) a dosé l'activité anti-membrane basale des deux immuns sérums néphrotoxiques que nous avons utilisés. Les résultats sont les suivants :

	Activité anti-MBG
Serum de lapin anti-rein de porc miniature ..	33,88 %
Sérum de canard anti-rein de porc miniature	29,93 %
Sérum de lapin non immunisé	26,86 %

De ces résultats, il est facile de déduire que la différence de néphrotoxicité entre le sérum de lapin immunisé contre le rein de porc miniature et le sérum de lapin non immunisé est bien faible (7,02 %). En outre, le sérum de canard anti-rein de porc miniature présente une néphrotoxicité à peine supérieure à celle du sérum de lapin non immunisé.

De plus, on considère que des Ac anti-MBG existent dans un sérum quand son activité anti-MBG est supérieure à 26 %. Autrement dit, nos immuns sérums néphrotoxiques n'ont qu'une activité anti-MBG modérée. Cette trop faible activité rend compte de notre échec dans la

création d'une Néphrite de Masugi sévère. En effet, l'activité anti-MBG d'un sérum néphrotoxique doit être de l'ordre de 50 à 60 % pour induire une glomérulo-néphrite dans 8 cas sur 10.

Il faut souligner, d'autre part, que la critique de notre méthodologie permet d'exclure des facteurs de résistance propre au porc miniature.

CONCLUSION

Le bilan de ces travaux, s'il ne peut pas être considéré comme spectaculaire, ne peut pas, non plus, être considéré comme absolument négatif. En effet, il est indéniable que nous avons obtenu une Néphrite de Masugi légère sur le porc miniature ce qui prouve la valeur du protocole utilisé.

De plus, ces expériences nous ont permis de mettre en évidence l'intérêt du porc miniature comme modèle expérimental. Cet animal présente une exceptionnelle tolérance (lombotomie répétée, prélèvements veineux abondants et itératifs...), une grande résistance aux infections et une récupération post-opératoire remarquable.

Il est également évident que les mises au point méthodologiques (techniques de prélèvements veineux et tissulaires) pourront servir à d'autres expérimentateurs et que les études biologiques (études des protéines, étude de l'hémostase, composition des membranes basales) sont à leur disposition.

En fait, la faille la plus importante de notre expérimentation et qui rend compte, semble-t-il, de notre échec relatif dans la réalisation d'une glomérulonéphrite expérimentale de Masugi, est la préparation d'un sérum trop peu néphrotoxique. Il sera donc sûrement utile de reprendre ce point et de :

— Préparer le SNT à partir de l'extrait total de rein, de préférence au surnageant ;

— Ajuster et répéter les doses de SNT (augmenter et fractionner les doses en injection rapprochée) ;

— Ou isoler des membranes basales par la méthode des tamis et en extraire les Ag ;

— Injecter des Ac anti-membrane basale purifiée.

En conséquence, des expérimentateurs utilisant des SNT plus efficaces que les nôtres obtiendront sûrement une glomérulonéphrite immunologique sévère. Ils devront alors confirmer que la prolifération des cellules glomérulaires et la mutilation des glomérules sont secondaires aux dépôts de fibrine endo et extra capillaire.

Puis, dans un deuxième temps, ils auront à étudier le rôle curatif de l'Héparine dans le traitement de la Néphrite de Masugi du porc miniature et à dissocier ses effets en comparant son action à celle des anti-vitamine K et à celle d'une substance anticomplémentaire.

Ceci leur permettra de montrer si l'Héparine agit par son effet anti-coagulant ou par son effet anticomplément ou bien par ses deux effets qui se compléteraient.

Vu : *Le Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire Rapporteur*

Van Haverbeke

Vu : *Le Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire*

Le Directeur,

Professeur R. Lautié

Vu : *Le Président de la Thèse*

J. Ducos

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Toulouse, le 14 février 1974.

Le Président de l'Université Paul-Sabatier

L. Lareng

BIBLIOGRAPHIE

1. — ANDRES (G.A.), MORGAN (C.), H.S.U. (K.S.), RIFKIND (R.A.) et SEEGAL (B.C.). — *J. Exptl. Méd.*, 1962, 115, 929.

2. — BLAU (M.), DAY (E.D.), PLANINSEK (J.) et PRESSMAN (D.). — *J. Immunol.*, 1957, 79, 334.

3. — BONEU (B.), BIERME (R.) et de BOISSEZON (J.-F.). — Hôpital Purpan, Toulouse, communication personnelle.

4. — COCHRANE (C.G.), UNANUE (E.R.) et DIXON (F.J.). — *J. Exptl. Méd*, 1965, 122, 91.

4 *bis*. — CONTE (J.), de BOISSEZON (J.F.), MIGNON-CONTE (M.), RAKOTOARIVONY (J.) et ORFILA (C.). — Tentative de réalisation d'une Néphropathie de Masugi chez le porc miniature. Sommaire D.G.R.S.T. Bordeaux, 14-15 janvier 1973 (1973, a).

4 *ter*. — CONTE (J.), de BOISSEZON (J.F.), MIGNON-COMTE (M.), RAKOTOARIVONY (J.) et ORFILA (C.). — Attempt to induce a Masugi Nephritis in miniature pig. Abstract Arterial Wall (1973, b).

5. — CRUICKSHANK (B.) et HILL (A.G.S.). — *J. Pathol. Bactiol.* 1953, 66, 283.

6. — De BOISSEZON (J.F.) et RAKOTOARIVONY (J.). — Hôpital Purpan, Toulouse, Communication personnelle.

7. — ESPINASSE (J.), VAN HAVERBEKE (G.) et CABANIE (P.). — *Revue Méd. Vét.*, 1973, 124, 4, 507.

8. — FARR (L.E.) et SMADEL (J.E.). — *J. Exptl. Méd.*, 1939, 70, 615.

9. — FUJIMOTO (T.), OKADA (M.), KONDO (Y.) et TADA (T.). Acta. Pathol. Japon, 1964, 14, 275.

10. — HALPERN (B.), LAGRUE (G.), FRAY (A.), MORARD (J.C.) et MILLIEZ (P.). — *La Presse Médicale*, 1965, 73, 57.

11. — HAMMER (D.K.) et DIXON (F.J.). — *J. Exptl. Méd.* 1963, 117, 1019.

12. — HEYMANN (W.) et LUND (H.Z.). — Pediatrics, 1951, 7, 691.

13. — HIRAMOTO (R.), GURANDOWSKI (J.), BERNECKY (J.) et PRESSMAN (D.). — Proc. Soc. Exptl. Biol. Méd. 1959, 101, 583.

14 — HORN (R.G.) et COLLINS (R.D.). — Lab. Invest. 1968, 18, 101.

15. — KAY (C.F.). — *Am. J. Med. Sci.* 1942, 204, 483.

16. — KRAKOVER (C.A.) et GREENSPON (S.A.). — Arch. Pathol. 1958, 66, 364.

17. — LINDEMANN (W.) — Ann. Inst. Pasteur. 1900, 14, 49.

18. — MAC CLUSKEY (R.T.) et VASSALI (P.). — The Kidney, 1969, vol. II, p. 84, New York, Rouiller et Muller.

19. — MAHIEU (Ph.). — Laboratoire d'Hématologie et Centre de Transfusion (Service du Professeur Miescher), Hôpital Cantonal de Genève. Communication personnelle d'après Conte (J.), de Boissezon (J.-F.), Mignon-Conte (M.), Rakotoarivony (J.) et Orfila (C.).

20. — MASUGI (M.). — Trans. Jap. Pathol. Soc. 1929, 19, 132.

21. — MASUGI (M.). — Beitr. Pathol. Anat. Allegm. Pathol. 1933, 91, 82.

22. — MASUGI (M.). — Beitr. Pathol. Anat. Allegm. Pathol. 1934, 92, 429.

23. — MASUGI (M.), SATO (Y.) et TODO (S.). — Trans. Jap. Pathol. Soc. 1935, 25, 211.

24. — MIGNON-CONTE (M.) et CONTE (J.). — Hôpital Purpan, Toulouse. Communication personnelle.

25. — MOUNT (L.E.) et INGRAM (D.L.). — The pig as a Laboratory animal. 1971, p. 103. London and New York, Academic Press.

26. — MUH (J.P.). — Communication personnelle d'après Conte (J.), de Boissezon (J.-F.), Mignon-Conte (M.), Rakotoarivony (J.) et Orfila (C.).

27. — PEARCE (R.). — *Univ. Penn. Med. Bull.* 1903-1904,16, 217.

28. — PRESSMAN (D.) et KORNGOLD (L.). — *J. Immunol.* 1957, 78, 75.

29. — PRESSMAN (D.), YAGI (Y.) et HIRAMOTO (R.). — Intern. Arch. Allergy. Appl Immunol. 1958, 12, 1225.

30. — SARRE (H.) et WIRTZ (H.). — Deut. Arch. Klin. Med. 1942, 189, 1.

31. — SEEGAL (B.C.) — Mechanims of Hypersensibility. 1959, p. 143. Boston, Shaffer, Lo Grippo and Chase.

32. — SMADEL (J.E.) et SWIFT (H.F.). — *J. Explt. Med.* 1941, 74, 345.

33. — SMALL (P.A.) et BAXTER (J.H.). — *J. Immunol.* 1965, 95, 282

34. — SWIFT (H.E.) et SMADEL (J.E.). — *J. Exptl. Med.* 1937, 65, 557.

35. — UNANUE (E.R.) et DIXON (F.J.). — *J. Exptl. Med.* 1965, 121, 697

36. — VASSALLI (P.), SIMON (G.) et ROUILLER (C.). — *Amer. J. Pathol.* 1963 a, 43, 579.

37. — VASSALLI (P.), SIMON (G.) et ROUILLER (C.). — *Nature,* 1963 b, 199, 1105.

38. — VASSALLI (P.) et MAC CLUSKEY (R.T.). — *Amer. J. Pathol.* 1964, 45, 653.

39. — VASSALLI (P.) et MAC CLUSKEY (R.T.). — Act. Néphrol. Hop. Necker, 1971, 55.

40. — VERNIER (R.L.) et BIRCH ANDERSEN (A.). — *J. Pédiat.* 1962, 60, 754.

41. — WARD (P.A.) et COCHRANE (C.G.). — *J. Exptl. Med.* 1965, 121, 215.

42. — WEINREB (M.S.), SOULES (K.H.) et WISSLER (R.W.). — *Am. J. Pathol.* 1954, 30, 311.

43. — WILSON (G.W.) et OLIVER (J.). — *J. Exptl. Med.* 1920, 32, 183.

44. — YAGI (Y.), KORNGOLD (L.) et PRESSMAN (D.). — *J. Immunol.* 1956, 77, 287.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 21

PREMIERE PARTIE : GENERALITES SUR LA NEPHRITE DE MASUGI 25

I. — *Introduction : Les deux phases immunologiques de la Néphrite de Masugi* 25

II. — *La Néphrite de Masugi chez différentes espèces animales* 26

1. — Rats 26

2. — Lapins 28

3. — Autres espèces 28

III. — *Lésions de la Néphrite de Masugi* 29

IV. — *Immunologie de la phase hétérologue* 30

1. — Les Antigènes glomérulaires 30

2. — Caractérisation physico-chimique des anticorps néphrotoxiques 32

3. — Spécificité des anticorps néphrotoxiques « in vitro » 32

4. — Localisation des anticorps néphrotoxiques dans le rein « in vivo » 33

5. — Vitesse de fixation et d'échange des anticorps néphrotoxiques 33

6. — Dosage des anticorps fixés sur le rein 34

7. — Rôle du complément dans la lésion glomérulaire 35

V. — *Immunologie de la phase autologue* 38

1. — Caractères généraux 38

2. — Importance de la phase autologue 38

3. — Mécanismes de l'atteinte rénale 39

VI. — *Facteurs non immunologiques* 39

1. — Régime alimentaire 39

2. — Coagulation sanguine 39

DEUXIEME PARTIE : RECHERCHES SUR LA NEPHRITE DE MASUGI CHEZ LE PORC MINIATURE 45

I. — *Introduction* 45

II. — *Conduite de la recherche* 46

1. — Phase préparatoire 46

A. — Problèmes techniques 46

B. — Etudes anatomiques et biologiques 49

C. — Préparation des immuns sérums 52

D. — Protocole expérimental 55

2. — Phase expérimentale 57

III. — *Résultats obtenus : Analyse et interprétation* 57

1. — Résultats biologiques 57
2. — Résultats histologiques 60
3. — Interprétation des résultats 64

CONCLUSION 67

BIBLIOGRAPHIE 71